



EJU

# BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

REC'D 26 MAY 1999

WIPO

PCT

COPIE OFFICIELLE

**PRIORITY  
DOCUMENT**SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le **16 AVR. 1999**Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIÉTÉ  
INDUSTRIELLE

## SIEGE

26 bis, rue de Saint Petersburg  
75800 PARIS Cédex 08  
Téléphone : 01 53 04 53 04  
Télécopie : 01 42 93 59 30



**BERVET D'INVENTION**  
**"SOLUTION POUR LA PREPARATION D'UNE SUBSTANCE PHARMACEUTIQUE**  
**POUR LE DIAGNOSTIC ET/OU LE TRAITEMENT DE LESIONS TISSULAIRES"**  
**BR - 9152 FR**

**PAGE SUITE**

**DEMANDEUR(S):**

<b>Nom, prénoms, adresse et pays</b>	<b>Nationalité</b>
2.- LANGE Norbert Rue Saint-Roch 23 CH - 1004 LAUSANNE SUISSE	Allemand
3.- ZELLWEGER Matthieu Chemin des Cottages 10 CH - 1007 LAUSANNE SUISSE	Suisse
4.- WAGNIERES Georges Chemin de la Brume 6 CH - 1110 MORGES SUISSE	Suisse
5.- VAN DEN BERGH Hubert La Bergerie CH - 1376 GOUMOENS-LA-VILLE SUISSE	Hollandais
6.- JICHLINSKI Patrice Chemin du Chêne 8 CH - 1052 LE MONT-SUR-LAUSANNE SUISSE	Suisse
7.- KUCERA Pavel La Loutière Chemin de Ratavolar 8 MONTBLESSON CH - 1000 LAUSANNE 27 SUISSE	Suisse

**SOLUTION POUR LA PREPARATION D'UNE SUBSTANCE PHARMACEUTIQUE POUR LE DIAGNOSTIC ET/OU LE TRAITEMENT DE LESIONS TISSULAIRES**

5 La présente invention concerne une solution d'un ester d'acide 5-aminolévulinique (E-ALA) pour la réalisation d'une préparation pharmaceutique utilisable pour le diagnostic et/ou le traitement de lésions tissulaires et/ou cellulaires par irradiation locale au moyen d'un rayonnement émis par une source d'énergie lumineuse suivie, dans le cas du diagnostic,  
10 d'une détection de la fluorescence émise par des substances dont l'acide 5-aminolévulinique (ALA) ou l'E-ALA sont des précurseurs, en particulier la protoporphyrine IX (PpIX).

On connaît déjà le principe de l'utilisation de composés dont l'ALA, ou les  
15 esters d'ALA (E-ALA) et notamment l'hydrochlorure d'hexylester d'ALA (h-ALA) sont des précurseurs, pour faire un diagnostic et/ou un traitement de lésions, en particulier de lésions cancéreuses. Ce principe est bien décrit dans la demande de brevet publiée sous le No WO 96/2841. L'administration de la solution peut être faite par voie orale ou par voie parentérale, par  
20 exemple sous forme d'une injection intradermique, sous-cutanée, intrapéritonique ou intraveineuse. Cette administration peut aussi se faire de façon topique, par exemple locale, en exposant la surface de l'organe à traiter à une solution d'E-ALA ou d'ALA. Un tampon imbibé d'une telle solution peut également être utilisé pour procéder à une administration topique. La  
25 concentration de la solution d'ester d'ALA (E-ALA) préconisée dans cette publication est comprise entre 1 et 50% et de préférence entre 1 et 5%.

L'administration de cette substance avec des concentrations aussi fortes s'est  
révélée, dans certains cas, toxique pour des tissus humains. Cette toxicité  
30 présente même en l'absence de rayonnement lumineux, peut contrarier gravement la génération de protoporphyrine IX (PpIX). De ce fait, de telles

concentrations ne peuvent, dans certains cas, pas être utilisées ou ne sont pas optimales pour permettre le dépistage et/ou le traitement de lésions.

En outre, les temps requis pour activer les principes actifs induits par la solution médicamenteuse se sont avérés extrêmement longs si l'acide 5-aminolévulinique libre, c'est-à-dire non estérifié (ALA) est utilisé. De ce fait, le diagnostic ainsi que le traitement, ne peuvent se faire avec de l'ALA libre qu'en milieu hospitalier, étant donné qu'ils requièrent souvent une immobilisation de longue durée, d'environ 5 heures, du patient.

10

Dans le cadre d'une tendance généralisée de réduction du coût des soins médicaux et du développement des soins à domicile, dans des cabinets privés ou des hôpitaux dits de jour, la démarche actuellement connue est lourde, contraignante pour le patient et coûteuse pour les assurances maladies et pour la communauté.

15

Malgré le progrès technologique que constitue l'application de l'ALA ou l'E-ALA pour diagnostiquer de façon précoce et traiter efficacement certaines affections, la généralisation de la méthode est ralentie par ces inconvénients majeurs.

20

Le but de la présente invention est de pallier ces inconvénients en mettant au point une solution destinée au diagnostic et/ou au traitement de lésions cancéreuses, notamment dans le domaine de l'urologie, administrée à des concentrations qui ne portent pas préjudice à la biosynthèse des composés actifs, et qui démontre une grande efficacité lorsqu'elle est appliquée pendant des temps suffisants relativement courts pour autoriser un traitement sinon ambulatoire du moins en clinique de jour, voire en cabinet médical.

25

Ce but est atteint par une solution d'un ester d'acide 5-aminolévulinique (E-ALA) telle que définie en préambule, caractérisée en ce que la concentration  $C$  de l'E-ALA dans la solution est inférieure à 1% ( $C < 1\%$ ).

30

Selon un mode de réalisation préféré, la concentration  $\underline{C}$  de l'E-ALA dans la solution est comprise entre 0,01% et 0,5% ( $0,01\% < \underline{C} < 0,5\%$ ).

- 5 De façon particulièrement avantageuse, l'ester d'ALA (E-ALA) est de l'hydrochlorure d'hexylester d'ALA (h-ALA).

De préférence, la solution est réalisée par dissolution d'ester d'ALA (E-ALA) dans un solvant compatible avec l'organisme humain ou animal.

10

Ledit solvant est avantageusement choisi parmi l'une des substances suivantes : eau filtrée stérilisée, solution physiologique de NaCl, solution tampon de phosphate, alcool.

- 15 Sous une forme préférentielle, la solution comprend un composant pour ajuster le PH à une valeur physiologique comprise entre 4,8 et 8,1.

Dans une forme de réalisation avantageuse, la solution peut comporter une substance complémentaire pour empêcher la transformation du PpIX en heme par complexage du fer dans les cellules vivantes.

20

Ladite substance complémentaire peut être un EDTA (tétra acétate diaminoéthylque), de la déferroxamine ou du desféral.

- 25 La présente invention sera mieux comprise en référence à la description ci-dessous d'une forme de réalisation préférée de la solution selon l'invention et de ses variantes et, à titre d'illustration, d'une application particulièrement avantageuse de cette solution pour le diagnostic et/ou le traitement de lésions à l'intérieur d'une cavité de l'organisme humain ou animal, telle que la vessie.

30

Une solution d'ester de l'acide 5-aminolévulinique (E-ALA) est préparée par dissolution de cette substance, par exemple à l'état de poudre amorphe ou

sous forme cristalline, dans un solvant approprié, compatible avec un utilisation in vivo. A titre d'exemple cette solution peut être de l'eau déminéralisée stérilisée, une solution de NaCl physiologique contenant approximativement 9% de NaCl, une solution tampon de phosphate, un alcool  
 5 ou une solution contenant un alcool ou similaire.

Cette solution est de préférence ajustée en PH à une valeur dite physiologique qui dépend de l'application et principalement de l'organe à traiter concerné. Cette valeur du PH est habituellement comprise entre 4,8 et  
 10 8,1. Dans le cas d'une intervention à l'intérieur de la vessie, le PH est de préférence compris entre 5,3 et 7,4.

La solution peut être complétée par l'addition d'une substance complémentaire pour empêcher la transformation du PpIX en heme par  
 15 complexage du fer dans les cellules vivantes. Cette substance complémentaire peut être un EDTA (tétra acétate diaminoéthylique), de la déferroxamine ou du desféral.

L'une des applications qui s'est révélée extrêmement intéressante est le  
 20 diagnostic et le traitement de lésions du type cancéreuses dans le domaine urologique et en particulier sur les parois intérieures de la vessie.

Selon un mode d'application, l'administration de la solution peut être topique, en contact avec les parois intérieures de l'organe. La vessie est remplie  
 25 d'environ 50ml de solution d'ester d'ALA (E-ALA) ou d'hexylester d'ALA (h-ALA) de faible concentration, à savoir une concentration C comprise entre 0,01% et 1% et de préférence comprise entre 0,01% et 0,5%.

L'instillation peut avoir une durée comprise entre ½ heure et 7 heures, mais  
 30 de préférence comprise entre ½ heure et 4 heures.

On a constaté que, sous ces faibles concentrations, l'ester d'ALA (E-ALA) présente une grande efficacité, ce qui se mesure par la présence de

protoporphyrine IX (PpIX) fluorescente apparaissant aux emplacements des lésions sur les parois intérieures de la vessie. En raison des faibles concentrations, la cytotoxicité est réduite, ce qui réduit considérablement les risques d'effets secondaires indésirables. En particulier, cette cytotoxicité  
 5 réduite favorise la génération des substances photosensibles et/ou fluorescentes dont les E-ALA ou l'ALA libre sont des précurseurs.

Une variante du mode d'application peut être définie sous la dénomination "méthode topique fractionnée". Elle comprend par exemple les étapes  
 10 suivantes :

- une première instillation de la vessie d'une durée de ½ heure à 3 heures et de préférence de l'ordre de 2 heures,
- un rinçage de la vessie,
- une deuxième instillation d'une durée de ½ heure à 3 heures, et de  
 15 préférence de l'ordre de 2 heures,
- un rinçage de la vessie.

Après un délai d'attente compris entre 0 et 4 heures, et de préférence de l'ordre de 2 heures, le dépistage et/ou le traitement par fluorescence de la  
 20 vessie peuvent avoir lieu.

L'application topique de la solution d'ester d'ALA (E-ALA) ou d'hexylester d'ALA (h-ALA) peut également être remplacée par une administration systémique. Dans ce cas, la solution est administrée par voie orale ou parentérale avec ou  
 25 sans combinaison avec des composants appelés transporteurs, tels que par exemple le diméthylsulfoxyde, le glycine ou similaires, destinés à favoriser l'absorption et/ou la migration de la substance active, en l'occurrence l'ester d'ALA (E-ALA) ou d'hexylester d'ALA (h-ALA), par les tissus et/ou les cellules.

30 Enfin un moyen d'activation de la pénétration tissulaire ou cellulaire de l'ester d'ALA (E-ALA) ou d'hexylester d'ALA (h-ALA) peut consister à pratiquer une ionophorèse sur les parois de l'organe concerné.



Ces phases sont suivies d'une ou de plusieurs phases de traitement photothérapeutique et/ou de traitement par fluorescence.

Lors d'un traitement phototérapique, on irradie les parois de l'organe concerné, par exemple la vessie, avec un rayonnement lumineux appelé lumière excitatrice, monochromatique ou non, en continu ou de manière séquentielle, qui se situe de préférence dans le domaine spectral compris entre 300 et 900 nanomètres, et de préférence entre 350 et 650 nanomètres.

10 Pour procéder à ces photothérapies, l'éclairement  $E$  appliqué sur les parois de la vessie, qui est la puissance lumineuse par unité de surface, est compris entre  $0,1 \text{ mW/cm}^2$  et  $1 \text{ W/cm}^2$ , et de préférence entre  $5 \text{ mW/cm}^2$  et  $500 \text{ mW/cm}^2$ . Cette lumière induit une réaction phototoxique due à la présence de la protoporphyrine IX (PpIX) en particulier et/ou de ses photoproduits dans les  
15 tissus. Les doses d'éclairement peuvent être appliquées de façon homogène sur toute la paroi de l'organe ou de façon collimatée uniquement sur les sites qui ont été identifiés comme comportant des lésions.

Pour le diagnostic par fluorescence, on irradie les parois de la vessie au  
20 moyen d'un rayonnement dont la largeur spectrale est comprise entre 300 et 700 nanomètres, et de préférence entre 350 et 650 nanomètres. Pour procéder à ces dépistages par fluorescence, l'éclairement  $E$  appliqué sur les parois de la vessie (puissance lumineuse par unité de surface) est compris entre  $1 \text{ mW/cm}^2$  et  $1 \text{ W/cm}^2$  et de préférence entre  $50 \text{ mW/cm}^2$  et  $500 \text{ mW/cm}^2$ . Cette lumière excitatrice induit la fluorescence de substances dont  
25 l'E-ALA, et en particulier l'h-ALA, est un précurseur, en particulier de la PpIX. Cette fluorescence est collectée par un système optique et détectée à l'oeil, ou par un détecteur ponctuel, linéaire ou matriciel tel qu'une caméra.

30 L'invention n'est pas limitée aux formes de réalisations décrites, mais s'étend à diverses extensions évidentes pour l'homme du métier.

## REVENDEICATIONS

1. Solution d'un ester d'acide 5-aminolévulinique (E-ALA) pour la réalisation d'une préparation pharmaceutique utilisable pour le diagnostic et/ou le traitement de lésions tissulaires et/ou cellulaires par irradiation locale au moyen d'un rayonnement émis par une source d'énergie lumineuse, suivie, dans le cas du diagnostic d'une détection de la fluorescence émise par des substances dont l'acide 5-aminolévulinique (ALA) ou l'E-ALA sont des précurseurs, en particulier la protoporphyrine IX (PpIX), caractérisée en ce que la concentration  $\underline{C}$  de l'ester d'ALA (E-ALA) dans la solution est inférieure à 1%.

$$\underline{C} < 1\%$$

2. Solution selon la revendication 1, caractérisée en ce que la concentration  $\underline{C}$  de l'ester d'ALA (E-ALA) dans la solution est comprise entre 0,01% et 0,5%.

$$0,01\% < \underline{C} < 0,5\%$$

3. Solution selon la revendication 1, caractérisée en ce que l'ester d'ALA (E-ALA) est de l'hexylester d'ALA (h-ALA).

4. Solution selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle est réalisée par dissolution d'ester d'ALA dans un solvant compatible avec l'organisme humain ou animal.

25

5. Solution selon la revendication 4, caractérisée en ce que ledit solvant est choisi parmi l'une des substances suivantes : eau filtrée stérilisée, solution physiologique de NaCl, solution tampon de phosphate, alcool.

6. Solution selon la revendication 4, caractérisée en ce qu'elle comporte un composant pour ajuster le PH à une valeur physiologique comprise entre 4,8 et 8,1.

$$4,8 < \text{PH} < 8,1$$

7. Solution selon la revendication 1, caractérisée en ce qu'elle comporte une substance complémentaire pour empêcher la transformation du PpIX en hème par complexage du fer dans les cellules vivantes.

5 8. Solution selon la revendication 7, caractérisée en ce que ladite substance complémentaire est un EDTA (tétra acétate diaminoéthylique).

9. Solution selon la revendication 7, caractérisée en ce que ladite substance complémentaire est de la déferroxamine.

10

10. Solution selon la revendication 7, caractérisée en ce que ladite substance complémentaire est du desféral.